Aus dem Institut für vegetative Physiologie der Universität Frankfurt/Main.
(Stellvertreter des Direktors: Privatdozent Dr. H. Jost).

Der Sauerstoffverbrauch kernhaltiger roter Blutkörperchen unter dem Einfluß von Laktat-Jonen

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der gesamten Medizin

der

Hohen Medizinischen Fakultät der

Johann Wolfgang Goethe-Universität zu Frankfurt am Main

vorgelegt von

Clemens Keiffenheim

aus Köln

Im Februar 1934.

Buchdruckerei Thiele Lippstadt/Westf.

Aus dem Institut für vegetative Physiologie der Universität Frankfurt/Main.
(Stellvertreter des Direktors: Privatdozent Dr. H. Jost).

Der Sauerstoffverbrauch kernhaltiger roter Blutkörperchen unter dem Einfluß von Laktat-Jonen

Inaugural-Dissertation

zur
Erlangung der Doktorwürde
in der gesamten Medizin
der
Hohen Medizinischen Fakultät der
Johann Wolfgang Goethe-Universität zu Frankfurt am Main

vorgelegt von
Clemens Keiffenheim
aus Köln

Im Februar 1934.

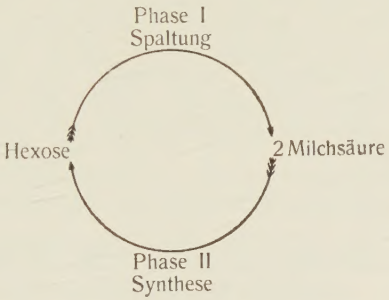
Buchdruckerei Thiele Lippstadt/Westf.

Referent: Priv. Doz. Dr. Jost.
Dekan: Prof. Dr. Holfelder.

Gedruckt mit Genehmigung
der
Medizinischen Fakultät der Universität Frankfurt/Main.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Bei seinen umfassenden Studien über die Energieumwandlungen bei der Muskelkontraktion unternahm Meyerhof (4, 5, 6) auch an anderen Gewebsarten Untersuchungen über den Zusammenhang von Oxydationsprozessen und Milchsäurebildung. Er vertrat dabei ganz allgemein die Auffassung, daß die Milchsäure bei der Atmung tierischer Zellen in Gegenwart von Zucker einen Kreislauf durchmacht, bei dem eine Spaltungsphase und eine Synthesephase zu unterscheiden ist. In der ersteren zerfällt ein Molekül Traubenzucker



in zwei Moleküle Milchsäure; in der letzteren werden zwei Milchsäuremoleküle zu Hexose wieder zusammengefügt. Ob nun in den verschiedenen Geweben die eine oder die andere Phase im Vordergrund steht, hängt von der Sauerstoffzufuhr ab. Die Aufbauphase ist endotherm und kann naturgemäß nur dann stattfinden, wenn durch gleichzeitig verlaufende Oxydationsprozesse Energie freigemacht wird.

Wenn bei stark atmenden und auf Kohlehydratoxydation eingestellten Geweben die Sauerstoffversorgung unterbunden wird, so geht der oxydative Abbau der Kohlehydrate in gärungsartige Spaltung über, wobei Milchsäure entsteht. Ebenso wie hier unter anormalen Bedingungen steht die Spaltungsphase unter physiologischen Bedingungen bei solchen Geweben im Vordergrund, die im Verhältnis zu ihrem Energiebedarf eine zu geringe Atmungsfähigkeit haben, wie das bei den kernlosen Erythrocyten des Säugetierblutes und besonders bei den Zellen der malignen Tumoren der Fall ist. Die aus den Oxydationsprozessen herrührende Energie wird also unter diesen Bedingungen durch die bei der C-Kettensprengung des Zukkers beim Uebergang in Milchsäure freiwerdende Energie ersetzt.

Im quergestreiften Muskel bestreitet bekanntlich die anaerobe Milchsäurebildung aus Kohlehydrat die Energie der Kontraktionsphase, wobei primäre energieliefernde Prozesse rückgängig gemacht werden. In der sich anschließenden Erholungphase, die durch eine starke Steigerung des Sauerstoffverbrauchs ausgezeichnet ist,

verbrennt nur ein kleinerer Teil der bei der Kontraktion gebildeten Milchsäure zu Endprodukten, während der größere Teil zu Kohlehydrat wiederaufgebaut wird.

Meyerhof (5) glaubt, daß die „Anhäufung der Milchsäure die treibende Ursache ist, die zwangsläufig die Resynthese herbeiführt" und so gleichzeitig wegen des dazu benötigten Energiebedarfs eine Oxydationssteigerung hervorruft. Die verstärkte Atmung ist beim Muskel so groß, daß nicht nur die während der Muskelarbeit gebildete Milchsäure zum Verschwinden gebracht wird, sondern daß auch eine weitere Milchsäurebildung in der Erholungsphase unterbleibt.

Zur Oxydation von einem Molekül Milchsäure sind drei Moleküle Sauerstoff nötig. Durch die hierdurch aufgebrachte Oxydationsenergie können nach Meyerhof drei bis sechs Moleküle Milchsäure wieder zu Kohlehydrat aufgebaut werden. Die Oxydationsenergie in der Erholungsphase wird also in verschiedenem Maße für die endotherme Resynthese der Milchsäure verwandt. Auch im günstigsten Falle ist die erstere aber immer noch wesentlich größer als diejenige Energiemenge, die beim Wiederaufbau des Kohlehydrats gebunden wird. Wenn wir nun die gesamte verschwundene Milchsäure zu der wirklich verbrannten in Beziehung setzen, ergibt sich der Meyerhofsche Oxydationsquotient:

$$\frac{\text{insgesamt verschwundene Milchsäure}}{\text{oxydierte Milchsäureäquivalente.}}$$

Meyerhof (5) findet diesen Quotienten — übrigens auch dann, wenn die vorher gebildete Milchsäure nicht durch Arbeitsleistung, sondern durch Anaerobiose entstanden ist, — immer von ungefähr gleichem Wert (im Mittel 4,33) und er betrachtet ihn deshalb als eine Größe, „die gewissermaßen eine Grundeigenschaft des Muskelstoffwechsels repräsentiert".

Die am Muskel gefundene gekoppelte Reaktion, der Verbrennung und der Resynthese der Milchsäure überträgt nun Meyerhof auch auf andere Gewebe. Er stellt bei den hierhergehörigen Untersuchungen ebenfalls einen Oxydationsquotienten auf, wobei die unter völlig anaeroben Bedingungen gebildete Milchsäure zu der bei normaler Atmung oxydierten, d. h. zu der aus dem Sauerstoffverbrauch berechneten Milchsäuremenge in Beziehung gesetzt wird. Der an verschiedenen Geweben gefundene Quotient:

$$\frac{\text{Mol rückgängig gemachter Spaltungsumsatz}}{\text{Mol Oxydationsumsatz}}$$

stimmt zahlenmäßig mit dem für den Muskel berechneten nahezu überein. Auf Grund dieser Beobachtung hält Meyerhof eine Uebertragung der am Muskel gefundenen gekoppelten Reaktion der oxydativen Milchsäurebeseitigung auf andere Gewebe für berechtigt.

Auch die Glykolyse der roten Blutkörperchen wird von Warburg und Negelein (7) unter Zugrundelegung dieser Auffassungen Meyerhofs betrachtet. Wie schon erwähnt, zeigt das Säugetierblut eine starke Milchsäurebildung bei ganz minimalem Sauerstoffbedürfnis, während die kernhaltigen Erythrocyten der Vögel eine starke Atmung ohne nachweisbare Milchsäurebildung aufweisen. Die nötige Energieproduktion wird also bei den kernlosen Säugetiererythrocyten hauptsächlich durch die anaerobe Milchsäurebildung geliefert; die Atmung genügt hier nicht, um die Spaltungen zum Verschwinden zu bringen. Demgegenüber konnte Negelein zeigen, daß bei normal atmenden Vogelblutkörperchen keine Milchsäure gebildet wird, daß also hier die „aerobe Glykolyse gleich Null ist" (7), während bei Abschluß von Sauerstoff eine Milchsäurebildung von ähnlicher Größenordnung eintritt wie im Säugetierblut unter aeroben Bedingungen. Die Atmung der kernhaltigen Erythrocyten des Vogelblutes ist also groß genug, um eine gärungsartige Spaltung von Kohlehydrat völlig zu verhindern oder rückgängig zu machen. Damit tritt der Kohlehydratstoffwechsel der Vogelblutkörperchen in Analogie zu den chemischen Vorgängen während der Erholungsphase im Muskel.

Wenn wir nun mit Meyerhof und Warburg annehmen, daß die Milchsäure auch im Vogelblut und in anderen ständig stark atmenden Geweben genau denselben Kreislauf durchmacht wie im Muskel, so muß man das wohl so deuten, daß die stetig in beiden Richtungen verlaufende Gleichgewichtsreaktion

$$\text{(I)}\quad \text{Kohlehydrat} \longrightarrow \text{Milchsäure}$$
$$C_6H_{12}O_6 \longleftarrow 2CH_3CHOHCOOH$$

mit der Reaktionsfolge

$$\text{(II)}\quad 2CH_3CHOHCOOH \xrightarrow{+\,6O_2} =6CO_2 + 6H_2O$$

kombiniert ist, wobei die in Reaktion I bezw. Reaktion II auftretenden Milchsäureäquivalente etwa im Verhältnis 4:1 (genauer 4,33:1) stehen. Es würden dann also mehr Zuckermoleküle zu Milchsäure zerfallen als oxydiert werden und die nicht oxydierten Milchsäuremoleküle müßten wieder zu Zucker aufgebaut werden. Wenn diese Auffassung, die zunächst als gezwungen erscheint, wirklich den tatsächlichen Vorgängen entspricht, so läßt sich dies nicht ohne weiteres nachweisen, da die Molekülverschiebungen nebeneinander herlaufen. Immerhin muß aber zugegeben werden, daß die Meyerhofschen Ueberlegungen auch für andere Gewebsarten von großem theoretischen Wert sind, da sie gestatten, Atmung und Milchsäurebildung in den verschiedenen Organen von gemeinsamen Gesichtspunkten aus zu betrachten.

Wenn man für den Vorgang der oxydativen Milchsäurebeseitigung das Massenwirkungsgesetz heranzieht, so erscheint die Mög-

lichkeit gegeben, den genannten Prozeß durch Veränderung der Konzentrationen der beiden Reaktionsstoffe, der Milchsäure und des Sauerstoffes zu beeinflussen. Durch Steigerung der Sauerstoffzufuhr über die normalen Bedingungen hinaus ist am Muskel keine Steigerung der Oxydation zu erzielen, weil offenbar andere Prozesse — in erster Linie vielleicht die Sauerstoffübertragung durch das Atmungsferment — als begrenzende Vorgänge eingeschaltet sind. Dagegen wirkt sich am Muskel eine Vermehrung des Oxydationssubstrates, der Milchsäure, ebenso aus, wie es für die physiologische Milchsäureanhäufung nach Muskelarbeit eben geschildert wurde. Meyerhof stellte schon 1925 fest, daß zugesetzte Milchsäure in demselben Verhältnis oxydiert und zu Kohlehydrat aufgebaut wird, wie es vorher für die bei der Kontraktion gebildeten Milchsäure gefunden worden war; auch die für die Erholungsphase charakteristische Atmungssteigerung ist vorhanden. So zeigten z. B. Froschmuskeln in Laktatlösung einen um 50 bis 150% gesteigerten Sauerstoffverbrauch. Durch Vermehrung des Oxydationssubstrates kann also am Muskel eine Oxydationssteigerung herbeigeführt werden und unter diesen Bedingungen tritt eine Begrenzung durch die Faktoren der Sauerstoffübertragung nicht in Erscheinung, was ich für die Betrachtung der zu schildernden experimentellen Ergebnisse dieser Arbeit besonders hervorheben möchte. Auch an anderen Geweben fand Meyerhof eine Atmungssteigerung nach Milchsäurezusatz.

Das zugesetzte Laktat kann natürlich nur dann zu Kohlehydrat aufgebaut werden, wenn gleichzeitig die Atmung ansteigt, aber umgekehrt ist „eine Atmungssteigerung noch kein Beweis dafür, daß nun Kohlehydrat aus Milchsäure gebildet wird, da erhöhter Sauerstoffverbrauch auch durch vermehrte Oxydation anderer Stoffe hervorgerufen werden kann". (Meyerhof 5).

Durch die geschilderten Untersuchungen angeregt, wollten wir die Gültigkeit der Meyerhofschen Vorstellungen für die kernhaltigen Vogelblutkörperchen weiter prüfen. Diese sind nach Warburg (9) „ein besonders günstiges Objekt zur Beobachtung biologischer Vorgänge, weil es sich hier um Körperzellen handelt, die nicht zu einem Gewebe verbunden, sondern isoliert und unabhängig von einander im Serum suspendiert sind".

Insbesondere sollte in vorliegender Arbeit festgestellt werden, ob auch im Vogelblut durch Erhöhung der Milchsäurekonzentration eine Steigerung der Oxydationsprozesse, d. h. eine Erhöhung der Atmung erzwungen werden kann. Für weitere Untersuchungen in dieser Richtung war die Entscheidung dieser Frage Vorbedingung, da nur eine völlige Analogie zum Stoffwechsel des Muskels eine Verallgemeinerung der hier abgeleiteten Vorstellungen berechtigt erscheinen läßt.

Methode.

Für meine Untersuchungen verwandte ich Gänseblut, das für jeden Versuch frisch beim Schlachten der Tiere in einer Geflügelhandlung unter möglichst sterilen Bedingungen gewonnen wurde und spätestens 20—30 Minuten nach dem Tode des Tieres zur Untersuchung kam. Während dieser Zeit wurde das Blut in einem Gefäß mit Glasperlen fast dauernd geschüttelt und dann durch einen Gazelappen filtriert. Zur Messung der Atmung ging ich nach den Anweisungen von O. Warburg (10, 11, 12) vor und benutzte den Apparat, den er in verschiedenen Arbeiten genau beschrieben hat (10, 12).

Die verwendeten Manometer bestanden aus einer U-förmig gebogenen Glasröhre, die auf einem länglichen Holzbrett befestigt war. Ihre beiden Schenkel endeten unten in einem etwa 10 cm langen Druckschlauch, der die Sperrflüssigkeit (Brodiesche Lösung) enthielt. Letztere konnte durch eine Schraube beliebig weit in die Manometerschenkel hochgedrückt werden. Der linke Schenkel war oben offen, der rechte durch einen Hahn verschließbar. 2—3 cm unterhalb dieses Hahnes ging ein rechtwinklig gebogenes Nebenrohr ab, mit dem durch besonders exakt gearbeitetem Schliff die Atmungsgefäße verbunden wurden. Als solche benutzte ich kegelförmige Glasröge, die in der Mitte des Bodens einen kleinen Einsatz hatten, in welchen zur Absorption der bei der Atmung sich entwickelnden Kohlensäure 0,05 ccm 32% NaOH (Merck) gegeben wurde. Die Temperatur im Apparat hielt ich auf 37,5 Grad Celsius konstant.

Um den Sauerstoffverbrauch nach der Warburgschen Formel berechnen zu können, wurde der Inhalt der Atmungsgefäße vorher durch Eichung bestimmt.

Die Schwankungen, die während des Versuches durch Veränderung der Temperatur und des Druckes entstehen, ermittelt Warburg durch Einschaltung eines weiteren Manometers, das mit der gleichen Menge Ringerlösung, wie die übrigen Ansätze an Gesamtflüssigkeit enthalten, beschickt ist. Die an diesem Thermobarometer abgelesenen Ausschläge werden später den an den mit Blut beschickten Apparaten gefundenen Werten zugezählt bzw. von ihnen abgezogen. Man erhält dadurch den wahren Sauerstoffverbrauch der Blutproben.

Die Hauptversuche mit Zusatz von Laktat und die Kontrollversuche setzte ich jeweils beide doppelt an; in den Tabellen ist der Durchschnittswert beider Doppelbestimmungen angegeben. Diese gingen nur um wenige Prozent auseinander. Bei den Hauptversuchen verwandte ich als Standardlösung eine N/2 Milchsäurelösung, von der vor jedem Versuch eine kleinere Menge mit NaOH neutralisiert wurde.

Für die einzelnen Ansätze nahm ich jeweils 1 ccm des defibrinierten Gänseblutes. Die erforderliche Laktatlösung wurde durch Verdünnung der neutralisierten Standardlösung mit isotonischer Salzlösung hergestellt und jeweils in Mengen von 1 ccm. den Ansätzen zugegeben. Die wirksame Laktatkonzentration war also das arithmetische Mittel der zugesetzten und der im Blut bereits vorhandenen Konzentration. In den Tabellen ist die Konzentration des zugesetzten Laktats für den Gesamtansatz berechnet angegeben. In

den Kontrollversuchen wurde zu 1 ccm Blut je 1 ccm isotonische laktatfreie Salzlösung, die im übrigen die gleiche war wie in den Hauptversuchen, zugesetzt, sodaß hier die von vornherein im Blut vorhandene Laktatkonzentration auf die Hälfte verdünnt wurde. In den Hauptversuchen wählte ich die zugegebene Laktatmenge so, daß durch den Zusatz die Laktatkonzentration gegenüber den Kontrollbestimmungen etwa auf das Doppelte bis auf das Neunfache in den verschiedenen Versuchen gesteigert war.

Als Verdünnungsflüssigkeit nahm ich zuerst eine wenig gepufferte physiologische Salzlösung, die kein Bicarbonat enthielt, um jede Steigerung der OH-Ionenkonzentration durch CO_2 Abdunstung während des Versuches zu vermeiden. Auf eine stärkere Pufferung konnte deshalb verzichtet werden, weil nach den Untersuchungen von Negelein im atmenden Gänseblut eine nennenswerte Milchsäurebildung während des Versuches nicht zu erwarten war. Die zuerst benutzte Verdünnungsflüssigkeit enthielt im Liter: 8,0 g NaCl, 0,2 g KCl, 0,2 g $CaCl_2$, 0,2 g secundäres Natriumphosphat und ferner 0,1 g Phosphatgemisch, das in jedem Versuch in isotonischer Lösung zugesetzt wurde, um die H-Ionenkonzentration dieser Aufschwemmung auf Ph=7,4 zu bringen. Die H-Ionenkonzentration wurde kolorimetrisch bestimmt und gelegentlich durch eine elektrometrische Messung kontrolliert.

Für den zweiten Teil der Versuche nahm ich als Verdünnungsflüssigkeit die verbesserte Ringerlösung von H. A. Krebs (2), die dem Blutserum weitgehend nahesteht, Bicarbonat bzw. HCO_3 in physiologischer Konzentration enthält und außerdem einen Glukosegehalt von 0,2% aufweist.

In den Versuchen mit Laktatzusatz habe ich auf die Ermittlung des absoluten Sauerstoffverbrauchs verzichtet, da es sich hier in erster Linie um eine möglichst genaue Erfassung der Unterschiede in der Atmung der Ansätze mit verschiedener Milchsäurekonzentration handelte.

Versuchsergebnisse.

Tabelle I.

Nr.	Sauerstoffverbrauch in der 1.	2.	3.	4. St.	Bemerkungen
1	(78) 71.5	(36) 50	(26) 48	(46) 37.5	Die Zahlen in () bedeuten den scheinbaren, die darunterstehenden den absoluten Sauerstoffverbrauch. (Verdünnungsflüssigkeit 1 ccm Krebs'sche Lsg.)
2	(33) 51	(17) 40	(18) 33	(10) 30	
3	(78) 63	(60) 56	(40) 46	(67) 48.5	

Zunächst seien hier drei Versuche aufgeführt, in denen der scheinbare und der absolute Sauerstoffverbrauch von 1 ccm defi-

briniertem Gänseblut ohne Laktatzusatz in einstündigen Perioden bestimmt wurde. (In den späteren Versuchen wurde der Gesamtsauerstoffverbrauch nach ein, zwei, drei und vier Stunden festgestellt.) Die eingeklammerten Zahlen geben den scheinbaren Sauerstoffverbrauch ohne Berücksichtigung der Temperatur- und Druckschwankungen an, die darunterstehenden Werte zeigen die wirkliche Atmung in vier aufeinanderfolgenden einstündigen Perioden. Die letzteren Zahlen wurden aus den eingeklammerten Größen durch Subtraktion bezw. Addition der Manometerwerte des Thermobarometers erhalten. Wie aus den in Tabelle I angegebenen Zahlen hervorgeht, ist die Atmung in der ersten Stunde am größten und sinkt im allgemeinen in den späteren Stunden stark ab. Nach der vierten Stunde beträgt sie im ersten Versuch 52%, im zweiten 59% und im dritten noch 76% des Wertes nach der ersten Stunde.

Um mich von der Beeinflußbarkeit der Atmungsgröße der Gänseerythrocyten zu überzeugen, untersuchte ich den Sauerstoffverbrauch von Gänseblutkörperchen bei Zugabe von Substanzen, deren hemmende bezw. fördernde Wirkung auf die Atmung aus früheren Untersuchungen bereits bekannt ist. Ellinger (1) fand bei Zusatz von bestimmten Harnstoffmengen eine Steigerung des Sauerstoffverbrauchs; das Blut entnahm er einjährigen Gänsen, die durch mehrere Aderlässe anämisiert waren. „Die atmungsfördernde Wirkung des Harnstoffs begann bei einer Konzentration von 0,045%, erreichte bei 0,36% ihren Höhepunkt und rief unter 0,9% eine Hemmung hervor". Der genannte Forscher (1) führte die Oxydationssteigerung „auf eine Vergrößerung der adsorbierenden Oberfläche durch den zugesetzten Harnstoff" zurück.

Im Gegensatz zu Ellinger fand ich im Blut von normalen Gänsen unter sonst gleichen Bedingungen keine Atmungssteigerung. Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, daß ich kein Blut von anämisierten Gänsen zur Verfügung hatte, wie es Ellinger zu seinen Versuchen verwendete. Denn gerade bei Blutkörperchen von jungen besonders stark anämisierten Tieren beobachtete er die größte Steigerung. Im übrigen stellte er selbst bei verschiedenen Versuchstieren sehr voneinander abweichende Ergebnisse fest. Gelegentlich wurde auch in seinen Versuchen die Atmung durch Harnstoff gar nicht beeinflußt.

Bei weiteren Versuchen, in denen Ellinger den Vogelerythrocyten Chinin zusetzte, beobachtete er eine beträchtliche Herabsetzung des Sauerstoffverbrauchs. Dies konnte ich in meinen Versuchen bestätigen, ich erhielt auch bei ganz niederen Chininkonzentrationen eine hemmende Wirkung, wie aus folgendem Versuchsbeispiel hervorgeht.

Tabelle II.

Sauerstoffverbrauch von 1 ccm defibriniertem Gänseblut verdünnt mit 0,9 ccm Krebsscher Lsg.
(ohne Berücksichtigung der Thermobarometerkorrektur)

1	2	3	4	5
Zusatz	Gesamtsauerstoffverbrauch in cmm nach 1	2	3	4 St.
0.1 ccm aqua dest.	53	131.5	177.5	241
0.1 ccm einer 0.6%-igen Lösung von Chinin. muriat.	35.5	80.5	96	128.5

Nach der ersten Stunde ist eine Hemmung von 33% erreicht, sie steigt in der zweiten auf 39% und in der dritten auf 46%. In der vierten Versuchsstunde beträgt sie 47%; in dieser Periode bleibt der Sauerstoffverbrauch nur noch um 1% gegenüber dem chininfreien Ansatz zurück.

In den nunmehr zu schildernden Versuchen mit Laktatzusatz wurde, wie schon erwähnt, teils die bicarbonatfreie physiologische Salzlösung (s. methodischer Teil), teils die Krebssche Lösung als Suspensionsflüssigkeit benutzt. Zunächst seien die Versuche geschildert, die mit bicarbonatfreier Salzlösung angestellt wurden.

Tabelle III.

Sauerstoffverbrauch von 1 ccm defibriniertem Gänseblut verdünnt mit 1 ccm bicarbonatfreier physiologischer Salzlösung (s. method. Teil).
(ohne Berücksichtigung der Thermobarometerkorrektur)

1	2	3	4	5	6
Nr.	Konzentration an zugesetztem Natriumlaktat	Gesamtsauerstoffverbrauch im cmm nach 1	2	3	4 St.
1 a)	0	20.5	34.5	63	68.5
1 b)	n 0.0012	22	36	63	71.5
2 a)	0	27	60.5	94	124
2 b)	n 0.0012	28.5	61	97	129
3 a)	0	69.5	104.5	157	173
3 b)	n 0.0012	68.5	99	153	165
4 a)	0	78.5	98.5	149.5	175
4 b)	n 0.0025	80	99	148.5	174.5
5 a)	0	36	100	118.5	163.5
5 b)	n 0.01	35.5	93.5	111	154.5
6 a)	0	56	96.5	133.5	207.5
6 b)	n 0.01	53	94.5	130	202

Für jeden Versuch sind in zwei untereinander stehenden Reihen in der oberen die Ergebnisse des Kontrollansatzes (a), in der unteren die des Hauptansatzes (b) mit Zusatz von Laktat angegeben. Aus Spalte *2* ist die Konzentration des zugesetzten Laktats des Hauptansatzes zu entnehmen. Die Spalten 3—6 enthalten den Gesamtsauerstoffverbrauch nach der 1. *2.* 3. und 4. Stunde. Die Zahlen bedeuten Kubikmillimeter Sauerstoff. In Versuch 1 und *2*, bei denen die Laktatkonzentration um n 0,0012, also, wie schon erwähnt, auf etwa das Doppelte des Kontrollansatzes vergrößert wurde, ergibt sich im Hauptansatz (b) auch nach vierstündiger Versuchsdauer keine sichtliche Steigerung der Atmung. Die kleinen Abweichungen während der einzelnen Perioden dürften sämtlich innerhalb der Fehlergrenze liegen. Dasselbe trifft für den Versuch 4 zu, bei dem die Laktatkonzentration um n 0,0025, also auf etwa das Dreifache des Kontrollansatzes erhöht wurde. In Versuch *3* bleibt die Atmung im Hauptansatz bei der gleichen Laktatkonzentration wie in Versuch 1 und *2* sogar gegenüber dem Kontrollansatz zurück. Bei den Versuchen 5 und 6 steigerte ich die Konzentration von zugesetztem Laktat auf 0,01. Auch hier ergab sich keine Steigerung der Atmung, sondern eher eine Hemmung. Dies trifft besonders für Versuch 5 zu, bei dem die Abweichung der Werte des An-

satzes b kaum noch als innerhalb der Fehlergrenze gelegen anzusehen ist; hier kommt eine Hemmungswirkung der Laktationen in höherer Konzentration zum Ausdruck.

Tabelle IV.

Sauerstoffverbrauch von 1 ccm defibriniertem Gänseblut verdünnt mit 1 ccm Krebsscher Lösung (s. method. Teil) (ohne Berücksichtigung der Thermobarometerkorrektur).

1	2	3	4	5	6
Nr.	Konzentration an zugesetztem Natriumlaktat	Gesamtsauerstoffverbrauch in cmm nach 1	2	3	4 St.
1 a)	0	49.5	54.5	90	106
1 b)	n 0.0012	49.5	55	91.5	109
2 a)	0	62.5	90.5	147	162
2 b)	n 0.01	56.5	86.5	141.5	159.5
3 a)	0	92	119	203.5	—
3 b)	n 0.01	91	121	206.	—

Für die hier aufgeführten Versuche ist die Anordnung ebenso wie bei Tabelle III. Als Aufschwemmungsflüssigkeit diente isotonische Lösung nach Krebs. In Versuch 1 mit n 0,0012 Laktat ergibt sich keine nennenswerte Differenz zwischen Hauptansatz und Kontrollbestimmung. In den Versuchen 2 und 3 war die Laktatkonzentration n 0,01. Eine deutliche Hemmung der Oxydation dürfte hier im Gegensatz zu den Versuchen 5 und 6 der Tabelle III nicht vorliegen.

Aus diesen Versuchen ergibt sich also, daß die Atmung der kernhaltigen roten Blutkörperchen durch Steigerung der Laktatkonzentration nicht vergrößert werden kann. Damit ist gezeigt, daß das zugesetzte Laktat weder oxydativ abgebaut wurde noch zu Kohlehydrat resynthetisiert worden ist.

Wenn wir diese negativen Ergebnisse, die den Meyerhofschen Anschauungen zu widersprechen scheinen, zu erklären versuchen, so ist auf verschiedene Möglichkeiten hinzuweisen. Man könnte sich zunächst vorstellen, daß der oxydative Abbau des Kohlehydrats im Vogelblut über andere Zwischenstufen verläuft, als es im Muskel der Fall ist, und daß die Milchsäure gar nicht als erstes Spaltungsprodukt auftritt. Diese Anschauung ist aber leicht durch Expositionsversuche unter absolut anaeroben Bedingungen zu widerlegen. Negelein stellte ja, wie schon erwähnt, fest, daß die anaerobe Glykolyse im Vogel- und Säugerblut von gleicher Größenordnung ist; in beiden Blutarten wird in nahezu gleichem Maße Milchsäure aus Kohlehydrat gebildet. Da der genannte Forscher diese Säurebildung

nur durch die ausgetriebene Kohlensäure und durch Abnahme des Bicarbonats in der Ringerlösung nachgewiesen hat, hielten wir es für notwendig, die Milchsäure durch eine direkte Bestimmung zu erfassen. Ich wandte hierfür die verbesserte Methode von Lehnartz (3) an. In Versuchen mit dreistündiger Exposition unter anaeroben Bedingungen bei 37 Grad, konnten wir im Gänseblut Milchsäuremengen nachweisen, die etwa das Dreifache des sofort gefällten frischen Blutes betrugen. Während der anaeroben Exposition stieg der Milchsäuregehalt z. B. von 25 mg% auf 73 mg%. Demnach ist auf Grund unserer bisherigen Kenntnisse anzunehmen, daß dem oxydativen Abbau des Kohlehydrats im Vogelblut eine Spaltung zu Milchsäure vorangeht.

Das Ausbleiben der Atmungssteigerung bei Zusatz von Laktat könnte auch so erklärt werden, daß zwar primär Milchsäure entsteht, diese aber in den nächsten Phasen anderen Oxydoreduktionen als im Muskel unterliegt. Derartige Umwandlungen könnten durch die hierfür benötigte Fermentkonzentration begrenzt sein, sodaß Vermehrung des Laktats keine unmittelbare Vermehrung des Oxydationssubstrates bedeutete. In diesem Falle hätten die Vorstellungen vom Kreislauf der Milchsäure für das Vogelblut gar keine Geltung; denn Meyerhof sieht ja gerade in der Milchsäure selbst das unmittelbare Substrat für die gekoppelte Reaktion der Oxydation und der Resynthese.

Wenn wir diese Deutung selbst als unwahrscheinlich ablehnen und nach anderen Möglichkeiten suchen, so ist die bemerkenswerte Tatsache hervorzuheben, daß das Vogelblut immer einen doppelt so hohen Milchsäuregehalt zeigt wie das Blut der Säugetiere, in dem ja auch noch Milchsäure durch anaerobe Glykolyse gebildet wird. In drei verschiedenen Proben von Gänseblut haben wir nach der verbesserten Methode von Lehnartz zwischen 20 und 30mg% Milchsäure nachgewiesen, während im Säugetierblut zwischen 10 bis 15mg% Milchsäure gefunden werden. Bei meinen Bestimmungen am Gänseblut ist es auszuschließen, daß die nachgewiesene Milchsäure erst zwischen Blutabnahme und chemischer Analyse entstanden ist; denn das Blut wurde während dieser Zeit dauernd geschüttelt und dadurch mit Sauerstoff gesättigt. Das Ergebnis ist um so auffallender, als nach Negelein im atmenden Vogelblut überhaupt keine Milchsäure durch Spaltung entsteht. Man muß daher annehmen, daß die von vornherein vorhandene Milchsäure gar nicht im Blute gebildet worden ist, sondern aus Muskeln und Organen ausgeschwemmt wurde. Es ist nun durchaus denkbar, daß die normale Milchsäurekonzentration des Vogelblutes und auch schon die in unsern Kontrollansätzen bei weitem das Maximum überschreitet, das bei der gegebenen Atmungsfähigkeit der roten kernhaltigen Blutzellen den Oxydationsvorgang beeinflussen könnte. Die Milchsäureoxydation müßte dann also im Vogelblut durch die Atmungsfähigkeit der Erythrocyten begrenzt sein. Dem entspricht auch, daß bisher eine Steigerung des Sauerstoffverbrauchs der kernhaltigen Erythrocyten nur durch Aenderung der physikalisch chemischen Bedin-

gungen, wie durch Oberflächenveränderung bei Harnstoffzusatz erzielt werden konnte (s. Ellinger).

Wenn wir als wahrscheinlichste Deutung obiger Ergebnisse annehmen, daß das Vogelblut schon unter physiologischen Bedingungen maximal atmet, so widerspricht dem nicht die Tatsache, daß diese Atmungsgröße ausreicht, um jede aerobe Glykolyse zu unterdrücken.

Zusammenfassung.

1. Es werden Versuche mit Gänseblutkörperchen angestellt, um die Beeinflußbarkeit der Atmung durch Laktat-Ionen zu prüfen. Bei Verwendung von verschiedenen Suspensionsflüssigkeiten wurde niemals eine über die Fehlergrenze hinausgehende Steigerung des Sauerstoffverbrauchs während einer Versuchsdauer von vier Stunden beobachtet, eher zeigte sich bei relativ hohen Milchsäurekonzentrationen vereinzelt eine ganz geringe Hemmung der Atmung.

2. Im frisch entnommenen Vogelblut ist der Milchsäuregehalt etwa zwei bis dreimal so hoch wie im Blut der Säugetiere.

Die vorliegende Arbeit wurde auf Veranlassung von Herrn Priv. Doz. Dr. H. Jost angefertigt, dem ich für seine Bemühungen herzlichst danke.

Literatur.

1. Ellinger, Philipp: Hoppe-Seyler, (Ztschr. für physiologische Chemie) Bd. 119, S. 11.
2. Krebs, H. A. und K. Henseleit: Hoppe-Seyler, Bd. 210, S. 33.
3. Lehnartz, E.: Hoppe-Seyler, Bd. 179, S. 1.
4. Meyerhof, Otto: Klin. Wochenschrift 1925, Nr. 8, S. 341.
5. Meyerhof, Otto, K. Lohmann u. R. Meier: Biochem. Ztschr. Bd. 157, S. 459.
6. Meyerhof, Otto, K. Lohmann: Biochem. Ztschr. Bd. 171, S. 381.
7. Negelein, E.: Biochem. Ztschr. Bd. 158, S. 121.
8. Takane: Biochem. Ztschr. Bd. 171, S. 403.
9. Warburg, Otto: Hoppe-Seyler Bd. 59, S. 112.
10. „ Biochem. Ztschr. Bd. 142, S. 324—328.
11. „ Biochem. Ztschr. Bd. 152, S. 51.
12. „ Der Stoffwechsel der Tumoren.
13. „ Posener und Negelein: Biochem. Ztschr. Bd. 152, S. 309.

Lebenslauf.

Am 22. Juli 1909 wurde ich zu Köln geboren. 1918 nach Frankfurt am Main übergesiedelt, besuchte ich dort das humanistische Gymnasium und bestand am 5. März 1928 die Reifeprüfung.

Mein Medizinstudium begann ich mit dem Sommer-Semester 1928 und verbrachte die fünf vorklinischen Semester alle an der Universität Frankfurt. Dort bestand ich auch am 28. Oktober 1930 die ärztliche Vorprüfung mit dem Prädikat gut.

Im Wintersemester 1930/31 studierte ich in München und im Sommersemester 1931 in Wien. Zum Wintersemester 1931/32 kehrte ich an die Frankfurter Universität zurück und verbrachte dort die letzten 4 klinischen Semester. Die Versuche für die vorliegende Dissertation stellte ich im Laufe des Jahres 1932 in dem Institut für vegetative Physiologie an. Am 1. Mai 1933 trat ich der SA bei, der ich heute noch angehöre.

Die ärztliche Prüfung bestand ich am 1. Dezember 1933 vor dem Prüfungsausschuß in Frankfurt am Main mit dem Urteil gut. Am 1. Januar 1934 begann ich bei der Versorgungsärztlichen Untersuchungsstelle in Köln-Deutz das Praktische Jahr.

Köln, den 30. I. 1934.